ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1972 — Nº 19

Action des Androgènes sur l'Érythropoïèse

Étude Expérimentale chez le Chien

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Diplôme d'Etat

présentée et soutenue publiquement en février 1972

DEVANT

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

PAR

COTASSON (Michel, Georges)

Né le 31 mai 1944 à Constantine (Algérie)

Jury :

Président : M. GADRAT, Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse.

Assesseurs { M. FLORIO, Directeur de l'Ecole Nat. Vétérinaire de Toulouse.
M. LESCURE, Professeur à l'Ecole Nat. Vétérinaire de Toulouse.

IMPRIMERIE TOULOUSAINE
Vve R. LION
16, rue Lakanal, 16

1972

Action des Androgènes sur l'Érythropoïèse

Étude Expérimentale chez le Chien

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1972 — Nº 19

Action des Androgènes sur l'Érythropoïèse

Étude Expérimentale chez le Chien

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Diplôme d'Etat

présentée et soutenue publiquement en février 1972

DEVANT

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

PAR

COTASSON (Michel, Georges)

Né le 31 mai 1944 à Constantine (Algérie)

Jury :

Président : M. GADRAT, Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse.

Assesseurs M. FLORIO, Directeur de l'Ecole Nat. Vétérinaire de Toulouse.
M. LESCURE, Professeur à l'Ecole Nat. Vétérinaire de Toulouse.

IMPRIMERIE TOULOUSAINE
Vve R. LION
16, rue Lakanal, 16

1972

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur . . . . . MM. FLORIO.
Directeurs honoraires . . . . . PONS.
DARRASPEN.
Professeur honoraire . . . . . LOMBARD.

PERSONNEL ENSEIGNANT

Chaire de Pharmacie-Toxicologie.
— Professeur titulaire . . . . . GODFRAIN.
— Maître-Assistant . . . . . Mme BURGAT-SACAZE.
Pharmacie - Toxicologie.

Chaire de Physique-Chimie biologiques et médicales.
— Professeur titulaire . . . . . MM. RICO.
Physique biologique et médicale. Chimie biologique et médicale.

Chaire d'Anatomie des Animaux domestiques.
— Professeur titulaire . . . . . PAVAUX.
Anatomie descriptive. Extérieur. Anatomie appliquée. Tératologie.

Chaire de Physiologie - Thérapeutique.
— Professeur titulaire. . . . . RUCKEBUSCH.
— Maître-Assistant Agrégé . . . . . FARGEAS.
Physiologie - Thérapeutique - Pharmacodynamie.

Chaire d'Histologie - Anatomie pathologique.
— Professeur titulaire. . . . . VAN HAVERBEKE.
— Maître de Conférences non Chef de Service, Professeur sans chaire CABANIÉ.
— Maître-Assistant . . . . . MAGNOL.
Histologie - Embryologie - Anatomie pathologique.

Chaire d'Hygiène et Industrie des aliments d'origine animale.
— Professeur titulaire . . . . . LABIE.
— Maître-Assistant . . . . . EECKHOUTTE.
Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie des denrées alimentaires d'origine animale.

Chaire de Parasitologie et Maladies parasitaires.
— Professeur titulaire . . . . . BRIZARD.
— Maître-Assistant Agrégé . . . . . DORCHIES.
Zoologie appliquée. Parasitol. externe. Parasitol. interne. Clinique.

Chaire de Sémiologie et Pathologie médicale des équidés et carnivores.
— Professeur titulaire . . . . . FLORIO.
— Maître de Conférences non Chef de Service, Professeur sans chaire LESCURE.
— Maître-Assistant . . . . . GUELFI.
Sémiologie et Pathologie médicale des équidés et des carnivores. Législation vétérinaire et Déontologie. Clinique.

Chaire de Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour.
— Professeur titulaire . . . . . TOURNUT.
— Maître de Conférences non Chef de Service, Professeur sans chaire ESPINASSE.
— Maître-Assistant . . . . . BÉZILLE.
Sémiologie et Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour. Clinique. Clinique ambulatoire.

Chaire de Pathologie chirurgicale.
— Professeur titulaire . . . . . CAZIEUX.
Propédeutique et Sémiologie chir. Technique chir. Pathologie chir.

Chaire de Pathologie de la Reproduction.
— Professeur titulaire . . . . . BERTHELON.
— Maître de Conférences non Chef de Service, Professeur sans chaire ROYAL.
Sémiologie et Propédeutique. Pathologie de la reproduction. Obstétrique. Clinique.

Chaire de Maladies contagieuses. Zoonoses. Législation sanitaire.
— Professeur titulaire . . . . . SAURAT.
— Maître-Assistant Agrégé . . . . . CHANTAL.
Maladies contagieuses. Zoonoses. Législation sanitaire.

Chaire de Pathologie générale. Microbiologie. Immunologie.
— Professeur titulaire . . . . . LAUTIÉ.
— Maître-Assistant . . . . . MEIGNIER.
Microbiologie. Immunologie. Pathologie générale.

Chaire de Zootechnie et d'Economie rurale.
— Professeur titulaire . . . . . QUEINNEC.
— Maître-Assistant . . . . . DARRÉ.
Ethnologie. Génétique appliquée. Hygiène générale. Zootechnie. Elevage. Economie générale et des productions animales.

Chaire d'Alimentation.
— Professeur titulaire . . . . . FALIU.
— Maître-Assistant Agrégé . . . . . GRIESS.
Botanique appliquée et Bromatologie. Agronomie. Alimentation.

COURS COMPLEMENTAIRES - CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Antibiothérapie des Maladies infectieuses . . . . . MM. MONNIER.
Aspect médical des Zoonoses . . . . . ARMENGAUD.
Energétique . . . . . LABOUCHE.
Initiation à l'informatique biomédicale. . . . . FERNET.
Agronomie . . . . . COMBRET.
Métabolismes . . . . . RAYNAUD.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats. (Délibération de la Faculté en date du 10 mai 1801 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924

UNIV. LEIDEN BIBL.

A MON ÉPOUSE

A MON FILS OLIVIER

A MES PARENTS

A MES BEAUX-PARENTS

A MES FRÈRES ET SŒURS

A TOUTE MA FAMILLE

A MES AMIS

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur GADRAT
de l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.
Hommage respectueux.

A NOTRE JURY DE THÈSE :

Monsieur le Professeur FLORIO

Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Chevalier de la Légion d'honneur
Officier de l'Ordre National du Mérite

Nous lui sommes reconnaissant d'avoir accepté de juger notre travail.
Hommage respectueux et profonde gratitude.

Monsieur le Professeur LESCURE

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Nous avons pu apprécier, durant notre scolarité, ses grandes qualités professionnelles et humaines.
Nous le prions de trouver ici l'expression de notre profond respect.

A TOUS NOS MAITRES

DE L'ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE

DE TOULOUSE

INTRODUCTION

Le rôle des androgènes sur l'érythropoïèse a d'abord été établi chez l'homme; leur action a été soupçonnée en raison des différences entre les volumes globulaires circulants de l'homme et de la femme [24].

Confirmation fut donnée de deux façons :

— d'une part, l'anémie des hypogonadismes mâles est corrigée par la thérapeutique substitutive [33];

— d'autre part, le traitement des cancers du sein par des doses massives d'androgènes peut parfois entraîner une polyglobulie vraie [24].

La confirmation de cette activité est venue également d'études expérimentales chez les animaux.

Il était intéressant de faire le point sur les connaissances actuelles concernant l'action des androgènes sur l'érythropoïèse. D'autre part, les anémies étant particulièrement fréquentes chez le chien, nous avons voulu évaluer l'intensité de la stimulation de l'érythropoïèse par un androgène non virilisant au cours d'anémie provoquée chez cette espèce.

Dans la première partie de notre travail, nous rappelons quelques notions de base concernant l'érythropoïèse qui nous permettront de mieux comprendre le mode d'action des androgènes envisagés dans la deuxième partie; nous terminons par une étude expérimentale réalisée sur des chiens, destinée à vérifier le bien-fondé de l'administration d'androgènes au cours d'une anémie.

CHAPITRE PREMIER

Aspects Morphologique et Dynamique de l'Érythropoïèse - Érythropoïétine

L'ensemble du processus de la formation des globules rouges est désigné sous le nom d'érythropoïèse. Celle-ci débute à un stade très précoce de l'embryogenèse et elle continue durant toute la vie de l'individu, les nouveaux globules formés remplaçant ceux qui sans cesse se détruisent et disparaissent.

Chez les Mammifères, dès les premiers stades de développement de l'œuf en embryon apparaissent les premiers globules rouges dans les cordons cellulaires d'origine mésenchymateuse qui entourent la vésicule ombilicale et qu'on appelle les îlots de Wolff.

Chez l'Homme, après les six premières semaines du développement de l'œuf, l'érythropoïèse se localise essentiellement dans le foie et accessoirement dans la rate.

Par la suite, à la fin de la vie fœtale, l'érythropoïèse se fait dans la moelle osseuse rouge et il en sera ainsi toute la vie de l'individu.

Quel que soit leur lieu de formation, les globules rouges dérivent d'une même source cellulaire, d'origine mésenchymateuse et appelée « hémohistioblaste »; il est remarquable de noter les rapports entre les éléments du sang et ceux du tissu conjonctif.

L'aboutissant de cette différenciation et maturation est l'hématie.

La destruction des hématies est compensée par une formation équivalente de ces éléments par les organes hématopoïétiques.

La demi-vie moyenne du globule rouge est estimée à trente jours. Sa destruction se fait au niveau des formations réticulo-endothéliales du foie et de la rate.

L'hémoglobine libérée par l'hémolyse est désintégrée dans ces organes et les produits de son catabolisme sont repris pour l'élaboration des pigments biliaires.

Une fabrication médullaire quotidienne adaptée aux pertes fait que le nombre des hématies est maintenu à un taux constant. Il existe donc des mécanismes régulateurs de l'érythropoïèse.

De grands progrès ont été accomplis dans leur connaissance grâce à l'essor de nouvelles techniques : marquage des cellules par des radio-éléments, cinétique du fer radioactif.

A côté de cette régulation quantitative, il existe une maturation harmonieuse des globules rouges qui conduit à la synthèse d'hémoglobine en quantité adaptée.

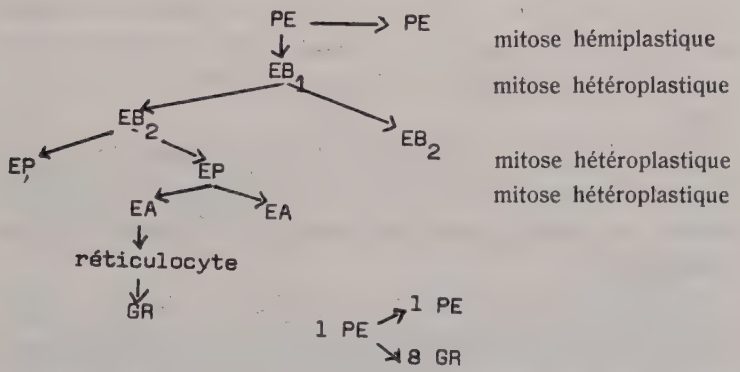
1) Aspect morphologique de l'érythropoïèse

Sur un frottis de moelle coloré au May Grumwald Giemsa, on constate que 20 à 25 pour cent des cellules nucléées appartiennent à la lignée érythroblastique. Ce sont là les précurseurs des globules rouges. Le caractère principal de ces cellules est l'apparition de l'acido-

philie du cytoplasme due à sa charge progressive en hémoglobine. Leur morphologie, chez l'homme et chez le chien, est très comparable.

Le chef de cette file de cette série est le proérythroblaste (pronormoblaste) ; c'est un élément de 18 à 20 μ possédant un volumineux noyau entouré d'un cytoplasme très basophile. La chromatine du noyau est relativement épaisse pour une cellule jeune et l'on note un ou deux nucléoles.

L'autoradiographie, après injection de Fer 59, a montré que le proérythroblaste était la première cellule à capter le fer radioactif [33].



Légende :

PE = proérythroblaste
EB_1 = érythroblaste basophile I
EB_2 = érythroblaste basophile II
EP = érythroblaste polychromatophile
EA = érythroblaste acidophile
GR = globule rouge.

Le proérythroblaste donne par mitose hémiplastique un autre proérythroblaste et un érythroblaste basophile I. C'est une cellule de 15 à 18 μ de diamètre, dont le nopau, toujours volumineux, est constitué par une chromatine assez épaisse; les nucléoles ont disparu. Le cytoplasme présente une basophilie régulière et moins intense.

Par mitose hétéroplastique, l'érythroblaste basophile I donne deux érythroblastes basophiles II : chacun d'entre eux donne deux érythroblastes polychromatophiles. L'érythroblaste polychromatophile est une cellule nettement plus petite que la cellule souche (12 μ), de forme arrondie; le noyau également arrondi et de petite forme est souvent décentré; sa chromatine forme des plaques volumineuses; le cytoplasme a une teinte violacée, parfois verdâtre, qui correspond à la synthèse de l'hémoglobine.

Par division hétéroplastique, l'érythroblaste polychromatophile donne deux érythroblastes acidophiles qui sont à peine plus volumineux que les globules rouges circulants (9 à 10 μ) ; leur noyau forme un bloc unique sans structure apparente et leur cytoplasme est acidophile.

Le réticulocyte est l'élément qui termine la lignée. Il ne comporte plus de noyau; ce dernier ayant été expulsé au stade précédent avec des fragments cytoplasmiques.

Notons que le stade du réticulocyte n'est pas obligatoire [33], si bien que le taux des réticulocytes sanguins n'est pas un reflet fidèle de l'érythropoïèse. Ces tout derniers éléments se trouvent donc dans la moelle et passent dans la circulation par diapédèse [24].

2) Aspects dynamiques de l'érythropoïèse

En 1930, l'introduction de la ponction médullaire permit de donner une image de l'activité médullaire du vivant de l'animal [12].

C'est grâce aux épreuves isotopiques, en particulier celles du fer radioactif, test d'introduction récente, que cette étude se trouve maintenant très approfondie.

Actuellement, les épreuves isotopiques ajoutent à un concept anatomique un concept physiologique beaucoup plus précis.

Cette dernière méthode (au Fe 59) a permis d'établir que la synthèse d'hémoglobine se faisait dès le stade proérythroblastique; cette notion a été acquise en mesurant, après chaque mitose, la réduction du nombre des grains de fer cytoplasmiques [33].

La méthode à la Thymidine tritée incorporée à l'ADN [33] vient confirmer qu'il existe trois mitoses entre le proérythroblaste et l'érythroblaste acidophile.

Chaque proérythroblaste donne donc naissance à huit érythroblastes acidophiles qui, après maturation, conduisent à la naissance de huit globules rouges.

Selon Lajtha, la première interphase durerait dix-huit heures, la deuxième vingt heures, la troisième trente heures. Le temps de mitose proprement dit durerait trente minutes [33].

A l'état physiologique, un petit nombre de réticulocytes serait plus riche que d'autres en grains de fer. Stohlman a émis l'hypothèse d'un nombre de mitoses inférieur à trois qui aurait conduit à ces éléments dont la taille est supérieure à la normale [33].

D'autres estiment que le pouvoir de synthèse de l'hémoglobine pourrait expliquer ce phénomène.

Il a été dit enfin qu'un nombre de cellules mourraient pendant le processus de la maturation. Cette « érythropoïèse inefficace » physiologique serait de l'ordre de 10 pour cent de l'érythropoïèse totale [33].

Les méthodes isotopiques ont donc permis de bien définir l'activité érythropoïétique en mesurant indirectement le taux de renouvellement du fer plasmatique et le taux maximal d'incorporation du fer marqué dans les hématies.

3) Les cellules souches

Le proérythroblaste est une cellule éphémère qui se divise pour donner naissance à deux érythroblastes. Pour que le pourcentage de ce premier type cellulaire soit constant, il faut qu'il existe obligatoirement une réserve de cellules capable de se différencier en proérythroblastes. Ce sont ces cellules de réserve qui constituent les cellules souches.

L'expérimentation nous confirme leur existence :

Urso travaille sur des souris exposées à 900 rœntgens de rayons X; celles-ci meurent en dix jours d'aplasie médullaire. Si l'on pratique sur celles-ci des injections de cellules médullaires compatibles avec des souris de même lignée, en petite quantité (de l'ordre de 10^6), 75 pour cent d'entre elles survivent et le nombre de leurs cellules médullaires est sensiblement normal vers le quinzième jour [33].

Or la majorité des cellules injectées sont différenciées et ne sont capables, au maximum, nous l'avons dit, que de trois à cinq divisions; la moelle régénérée comptant plus de mille fois le nombre de cellules injectées, il faut donc que l'on ait apporté, avec la moelle, des cellules capables de division illimitée et de différenciation vers les trois lignées myélopoïétiques.

La théorie classique considère que les cellules réticulaires de la moelle représentent les cellules souches.

Cependant, les expériences portant sur la régénération médullaire d'animaux irradiés, à dose létale, ont établi que dans le sang circulant il existait des cellules souches capables de remplir cette fonction myélopoïétique.

C'est ainsi que Brécher obtient un rat protégé contre une irradiation létale s'il est mis en parabiose avec le rat normal [33].

De même, la restauration de la moelle de souris irradiées à dose létale peut être réalisée par l'injection d'un culot de globules blancs obtenu par centrifugation. On a fait du petit lymphocyte la cellule mère des éléments hémoformateurs [33]. Ces derniers, en effet, apparaissent en grand nombre lorsqu'il existe une myélopoïèse accrue.

Deux schémas sont proposés pour expliquer la façon par laquelle les cellules souches se maintiennent à un taux constant.

Chaque fois qu'une cellule souche se différencie, elle le fait de façon symétrique; une cellule fille devient un érythroblaste et l'autre une nouvelle cellule souche (mitose hémiplastique).

La seconde hypothèse voudrait que chaque fois qu'une cellule souche se différencie en proérythroblaste, la place laissée vide se trouve remplie par la division d'une autre cellule souche. On pourrait ainsi concevoir deux compartiments de cellules souches : l'un où celles-ci resteraient indifférenciées après division, qui alimenterait, selon les besoins, un deuxième compartiment où se trouveraient les cellules sensibles à l'action de l'érythropoïétine [33].

4) L'érythropoïétine

Le nombre de globules rouges livrés à la circulation dépend de facteurs qui influencent, d'une part, la différenciation des cellules souches en proérythroblastes et, d'autre part, les mitoses successives de celles-ci.

a) *Mécanisme de la différenciation d'une cellule souche en proérythroblaste*

Cette étude se confond avec celle de l'érythropoïétine dont l'existence a été imaginée il y a soixante ans. On sait depuis fort longtemps que le facteur essentiel d'activité de l'érythropoïèse est l'hypoxie [7, 24] et, plus précisément, le rapport entre l'apport d'oxygène aux tissus et leurs besoins.

La théorie de Jacobson nous indique que, lorsque l'apport d'oxygène sanguin est supérieur aux besoins métaboliques, la production d'érythropoïétine endogène est très faible [26, 28]. Ainsi, dans les conditions de jeûne, ce phénomène se trouve réalisé.

L'anémie est également un stimulant de l'érythropoïèse. Le mécanisme exact par lequel elle intervient n'est pas parfaitement établi. Sans doute est-elle un facteur d'hypoxie.

L'hypoxie influence l'activité érythropoïétique par l'intermédiaire d'un facteur humoral. Les premiers résultats convaincants ont été établis chez l'animal. Ainsi, Reisman place deux rats en parabiose; l'un respire de l'air normal, l'autre un air appauvri en oxygène. Chez les deux animaux apparaît une hyperplasie érythropoïétique liée évidemment à un facteur humoral [33].

De nombreux travaux étudient l'activité érythropoïétique du plasma, et les urines des animaux soumis à l'hypoxie ou à une hémolyse ont confirmé l'existence de ce facteur humoral appelé maintenant érythropoïétine.

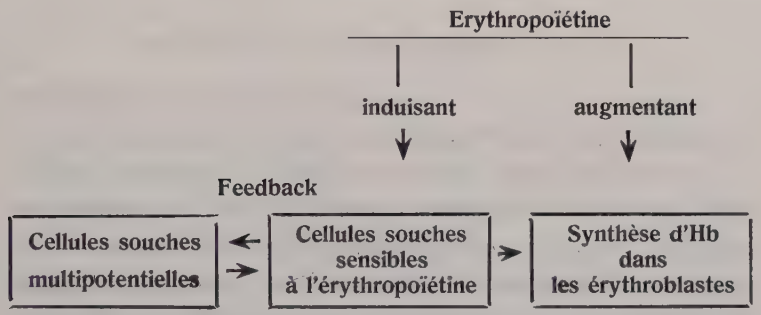
Le mode d'action de l'érythropoïétine sur les tissus érythropoïétiques a été un sujet de discussion depuis ces dix dernières années, surtout depuis que la cinétique et la régulation des cellules souches ont été pleinement

élucidées. Il semble établi que l'érythropoïétine agit comme un inducteur de la différenciation des cellules souches.

Le mécanisme régulateur de cette différenciation des cellules souches en pronormoblastes n'est pas encore bien compris.

Selon LAJTHA et STOHLMAN [33], l'érythropoïétine, non seulement induit cette différenciation, mais règle également la synthèse d'hémoglobine dans les érythroblastes encore capable de synthèse d'ARN.

En résumé, schématisons cette action :



La différenciation des cellules souches en proérythroblastes est assez rapide; chez des animaux dont l'érythropoïèse a été préalablement supprimée par polyglobulie, les proérythroblastes réapparaissent vers la douzième ou dix-huitième heure qui suit l'injection d'érythropoïétine [20, 33].

La concentration d'hémoglobine dans le cytoplasme serait le facteur régulateur des mitoses; à un certain taux, elle bloquerait la synthèse des acides nucléiques et arrêterait également la macrocytose existante [24, 26].

Pour expliquer cette réticulocytose précoce, on a invoqué une maturation et une synthèse d'hémoglobine accélérées en même temps qu'une réduction du nombre des mitoses [11, 16, 26].

b) *Propriétés physico-chimiques* [1, 8, 16, 25]

Cette hormone n'a pas été encore isolée à l'état purifié, mais on a pu en réaliser le dosage. On sait qu'il s'agit d'une glycoprotéine circulant dans le plasma et migrant avec les α 2 globulines et possédant un maximum d'absorption à 270 mμ.

Cette protéine n'est pas dialysable; elle est relativement thermostable et est inactivée par les enzymes protéolytiques.

c) *Lieu de production et formation*

Le rein joue un rôle essentiel dans la production ou l'action de l'érythropoïétine [6].

La néphrectomie bilatérale chez les animaux abolit, chez certains, et diminue, chez d'autres, la production érythropoïétique par les stimuli habituels et, corollaire essentiel, l'injection d'érythropoïétine chez ces animaux fait apparaître l'érythropoïèse [1, 10, 21, 23, 27, 28, 34].

Cependant, le rein n'est pas le seul organe qui sécrète cette hormone [22].

Naets, qui, en 1960, expérimente chez le chien, pense que dans cette espèce la seule production d'érythropoïétine trouve son siège dans le rein.

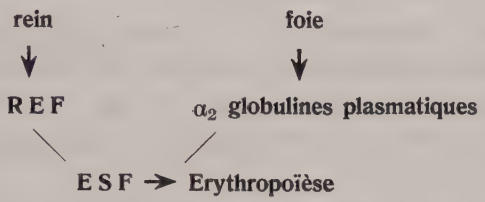
Chez les autres espèces et chez l'homme, le lieu de formation de l'érythropoïétine extrarénale n'est pas encore connu [16].

De récentes observations de Gordon, Cooper et Zanzani (1967) suggèrent l'existence d'un facteur érythropoïétique rénal contenu dans une fraction mitochondriale des cellules rénales [14, 15, 16] au niveau de l'appareil juxtaglomérulaire [33].

Ce facteur érythropoïétique rénal (R E F) est probablement de nature enzymatique et agirait sur un

substrat sérique encore indéfini pour produire un principe actif (l'E.S.F. = Erythropoietin stimulating factor).

Ce facteur sérique est probablement une globuline produite dans le foie et présente dans un sérum normal. De nombreux auteurs soulignent cette même théorie [1, 13, 16, 28].



d) *Régulation de la production d'érythropoïétine*

Le taux de l'érythropoïétine augmente dans le plasma et l'urine après une hémorragie, une lyse des globules rouges ou l'hypoxie; ce taux diminue quand la masse des globules rouges augmente.

Ces observations ont permis à Fried, Flzak et Gobdwasser (1957) de proposer la théorie de la « demande d'approvisionnement des tissus en oxygène » comme facteur de la production d'érythropoïétine [16, 28].

Ainsi, si l'oxygène fait défaut dans les tissus, les reins sécrètent davantage d'érythropoïétine; si l'oxygène est en excès, le rein freine alors la production d'érythropoïétine.

Selon d'autres auteurs, ce mécanisme de régulation ne serait pas le seul; il y aurait également un mécanisme de feedback à partir du sang périphérique faisant intervenir, soit un « stimulateur », soit un « inhibiteur » de la production d'érythropoïétine [16].

e) *Détermination de l'activité de l'érythropoïétine*

Plusieurs procédés de détermination de l'activité de cette hormone ont été développés durant ces quinze dernières années.

Aujourd'hui, les souris polycythémiques (par hypoxie ou après transfusions répétées) restent le matériel de la détermination le plus sensible.

Après l'injection de l'érythropoïétine, l'augmentation de cellules rouges est mesurée par l'incorporation de Fe^{59} dans le sang circulant. Le taux de Fe^{59} incorporé est proportionnel à la quantité d'érythropoïétine existante [8, 16].

Une préparation de référence internationale est faite par le Docteur Cotes (Division of biological standards, National Institute for Medical Research, Mill Hill, London).

Pour le dosage *in vitro*, Scholley et Garcia [1962] ont produit une anti-érythropoïétine qui permettra plus tard la réalisation de ce dosage particulier [16].

f) *Métabolisme de l'érythropoïétine*

Chez l'animal soumis à l'hypoxie, l'érythropoïétine apparaît en deux à trois heures; elle atteint son maximum à la seizième heure et, si le stimulus cesse, l'activité érythropoïétique décroît rapidement. Sa demi-vie est de trois à cinq heures [33].

Chapitre deuxième

Rôle des Androgènes sur l'Érythropoïèse

On a dit que l'érythropoïèse était l'« œuvre de l'organisme tout entier »; l'action de l'érythropoïétine, de l'hormone de croissance et du système nerveux central a été étudiée. L'activité des androgènes, qui a fait l'objet de nombreuses expérimentations, a permis d'approfondir son mécanisme d'action dans l'érythropoïèse.

1) Rappel sur les androgènes

a) *Découverte des androgènes*

Les bases de cette étude furent l'œuvre de Kochakian et Murlin (1935). Après la découverte des hormones stéroïdes, vers les années 30 (Butenandt, Ruzicka, ...) J. R. Murlin, aux États-Unis d'Amérique [24], entreprit une série d'études systématiques en vue de déterminer si les hormones stéroïdes qui commandaient la vie sexuelle avaient une action métabolique (ce qui aurait expliqué les différences observées entre le métabolisme du mâle et celui de la femelle).

C'est ainsi que son collaborateur, KOCHAKIAN, fut conduit à constater, chez les chiens castrés qui recevaient des androgènes, l'inversion du bilan azoté qui, de négatif qu'il était, devenait positif.

De tous les stéroïdes, ce sont les androgènes qui ont le pouvoir anabolisant le plus intéressant pour le thérapeute. Ces stéroïdes interviennent à des degrés divers dans l'édification et le maintien des protéines de l'organisme.

b) *Androgènes et anabolisants*

Les substances qui favorisent l'élaboration des tissus vivants ou qui en diminuent la dégradation sont dites anabolisantes. Ce terme s'est rapidement limité aux stéroïdes qui freinent la dégradation protéique.

Seules les hormones sexuelles, qui possèdent une activité métabolique très nette, à côté de leur rôle de différenciation génitale, et qui sont, pour la plupart, préparées par la synthèse, se prêtaient à la recherche d'agents strictement anabolisants.

Le problème était le suivant : exalter les propriétés anabolisantes de ces stéroïdes et diminuer leur action androgène.

Les stéroïdes sont des corps chimiques qui ont une structure commune tétracyclique dérivée d'un hydrocarbure saturé : le *stérane* qui possède dix-sept atomes de carbone numérotés de façon conventionnelle.

Les stéroïdes ayant une action endocrinienne se trouvent parmi les trois squelettes de base :

— l'œstrane, avec dix-huit atomes de carbone,
— l'andostrane, avec dix-neuf atomes de carbone,
— le pregnane, avec vingt et un atomes de carbone.

Le groupe des 19 NOR stéroïdes fut découvert en 1950 par A. J. BIRCK [24].

Chez ces stéroïdes, le radical méthyl, situé en C_{19}, disparaît (NOR = no radical), ce qui a pour conséquence la suppression des propriétés virilisantes de cette série de corps, le pouvoir anabolisant demeurant toutefois le même qu'avec la testostérone.

La nor testostérone, ou 19 nor androsténolone, ou encore nandrolone, servit de « patriarche » à toute une série de substances qui répondaient aux espoirs des endocrinologistes.

Dans notre expérimentation, nous utiliserons un autre dérivé de la testostérone, le 1 méthyl Δ^1 androsténolone, sous forme d'acétate * dont la dénomination commune est « méthénolone ».

L'activité de ce produit a été définie en le soumettant à différents tests, dont le plus couramment utilisé est celui de Gordonhershlerger (augmentation du poids du muscle releveur de l'anus chez les rats castrés [32, 35].

L'action virilisante fut mesurée par la croissance de la vésicule séminale et de la prostate ventrale du rat; cette action est des plus réduites [35, 32].

Le rapport $\frac{\text{effet anabolisant}}{\text{effet androgène}}$ de ce produit étant élevé, nous pouvions utiliser cette drogue à des doses efficaces comme anabolisant sans crainte des réactions virilisantes.

L'administration des protido-anabolisants provoque une baisse de l'élimination azotée.

Il se produit, au niveau de la cellule, une désamination plus faible des acides aminés, qui sont ainsi « épargnés » [24].

---

* Nom déposé : « Primobolan », commercialisé par les Laboratoires Schering.

Torezuka, en 1963, a d'ailleurs démontré que les anabolisants favorisent la synthèse des protéines dans la cellule [24].

2) Androgènes et érythropoïèse

a) *Introduction*

L'observation de quelques patients recevant un traitement d'androgènes montrent une augmentation de la masse des cellules rouges circulantes et a stimulé l'intérêt porté au mécanisme d'action des androgènes sur l'érythropoïèse.

On peut prévenir, par la testostérone, l'anémie et l'hypoplasie causées par la castration chez le rat mâle. L'administration d'hormones mâles pourrait même, selon Overbeek [24] entraîner une polyglobulie sur les cobayes. Martin a observé, chez les malades traités à la méthénolone, une augmentation du taux d'hémoglobine [11, 26, 32].

b) *Conditions d'action*

Importance de la dose d'androgène utilisée [19].

Edwin et Mirand (1966), en travaillant sur le chien, pratiquent des injections de posologie différente.

Alors qu'ils n'obtenaient aucune stimulation avec 50 mg de propionate de testostérone administré en une seule fois, la meilleure réponse est obtenue avec 10 mg par jour pendant douze jours. Les doses de 5 à 25 mg par jour ne provoquent pas de grand changement lorsqu'elles sont répétées pendant douze jours.

Importance de la néphrectomie [7, 13, 18, 29].

Si nous pratiquons cette opération, il n'y a plus aucune action des androgènes.

L'état de jeûne de l'animal [28].

Cet état ne permet plus l'action érythropoïétique de ces anabolisants.

James et Fisher ont montré que l'activité érythropoïétique de la testostérone n'est pas liée à ses propriétés androgéniques. Des dérivés de la testostérone, qui ont une activité virilisante moins élevée, sont plus efficaces que la testostérone[4, 5, 7, 30, 31].

c) *Mécanisme d'action des androgènes sur l'érythropoïèse*

Des hypothèses aussi nombreuses que variées se sont succédé ces dix dernières années. Il nous convient d'opérer un tri pour essayer d'en retenir le mécanisme le plus probable.

Hypothèses fortement critiquées.

- Androgènes et métabolisme de base.

L'action érythropoïétique des androgènes ne semble pas liée au métabolisme de base.

En effet, Shirakura et Azuma nous montrent que la stimulation de l'activité érythropoïétique par la testostérone n'est pas accompagnée par une augmentation de la consommation d'oxygène [31]. Ce fait indique que la testostérone n'exerce pas un effet stimulant de l'érythropoïèse par une augmentation du métabolisme basal.

- Aucune action des androgènes sur les cellules souches.

Un effet sur la différenciation des cellules souches doit être exclu puisque ces hormones sont inefficaces chez l'animal néphrectomisé.

Chez les souris rendues polycythémiques par transfusion, dans tous les cas, J. P. Naets observe que les

androgènes sont inefficaces. L'action de ces hormones ne doit pas se trouver dans la différenciation des cellules souches, mais dans une interaction avec l'érythropoïétine [24].

- La testostérone n'agirait pas en augmentant la quantité d'érythropoïétine.

Plusieurs auteurs ont pensé que la stimulation érythropoïétique liée aux androgènes était aussi liée à une augmentation de la production d'érythropoïétine [1, 2, 7, 28, 31]. Le seul fait que les androgènes soient inefficaces en l'absence d'érythropoïétine montre que le mécanisme doit être différent [1, 9, 16]. D'autre part, les androgènes se trouvent actifs dans des aplasies au cours desquelles l'activité érythropoïétique du plasma est spontanément élevée [1, 16, 20].

Hypothèses plus probables.

- Les androgènes agissent par l'intermédiaire de l'érythropoïétine (E.S.F.).

Il a été montré, à l'aide d'immunsérum antiérythropoïétine, dont on sait qu'il inhibe l'activité de cette hormone chez l'homme et chez un grand nombre d'animaux, que la testostérone n'avait aucune action érythropoïétique si l'on pratique des injections répétées de cette antiérythropoïétine [17, 33]. La néphrectomie nous montre également que les androgènes ont un effet érythropoïétique qui nécessite la présence d'érythropoïétine [9].

Enfin, chez l'animal, l'injection simultanée de testostérone et d'érythropoïétine ou l'action simultanée de la testostérone et de l'hypoxie entraîne une augmentation de l'érythropoïèse plus marquée que la somme des effets individuels de la testostérone, de l'érythropoïétine ou de l'hypoxie [33]. Il y aurait donc une synergie entre ces deux facteurs.

• Mécanisme d'action probable.

— Temps de latence et durée d'action des androgènes.

Gordon, Fried et Gierney observent que l'effet maximum de la testostérone s'établit durant la première semaine de traitement, mais chute immédiatement après [16]. Le temps de réponse de la production érythropoïétique après le traitement par les androgènes diffère considérablement sur les animaux soumis à l'hypoxie; l'activité maximum se trouve entre la seizième et la vingt-quatrième heure après l'exposition à une pression barométrique basse et la chute vient après s'échelonner jusqu'à la cinquième semaine [19, 24].

Cette différence de stimulation après l'action des androgènes, comparée à celle du stimulus hypoxique, suggère un mécanisme quelque peu différent.

Certains [33] pensent que les androgènes agiraient par le biais des produits de leur catabolisme, et cela expliquerait cette action retard.

J. P. Naets et M. Wittek pensent que la chute de l'activité des andogènes après la première semaine s'explique par un phénomène de « feedback » [24]. En effet, il est concevable que l'augmentation de la production de globules rouges par les androgènes déprimerait la production d'érythropoïétine et, en conséquence, réduirait toute activité érythropoïétique.

— Action sur les érythroblastes déjà différenciés.

Le temps de latence de deux ou trois jours [9, 24] observé dans l'action des androgènes fait penser que les hormones pourraient agir après la différenciation des cellules souches sur les érythroblastes. Dans les cellules, il y aurait une synthèse d'hémoglobine accrue qui rac-

courcirait les intervalles des divisions et diminuerait l'érythropoïèse « inefficace » [24, 35].

— Mécanisme voisin de celui des œstrogènes sur l'érythropoïèse.

Depuis que Goldwasser affirme que l'effet inhibiteur des œstrogènes est maximal trois jours après l'administration d'androgènes, il est tentant de déduire que les androgènes et les œstrogènes ont des mécanismes d'action semblables. En effet, le maximum de stimulation des androgènes est obtenu dans le même délai [24].

Il semble probable que l'effet inhibiteur exercé par l'œstradiol sur l'érythropoïèse soit lié à la diminution de la quantité et aussi de l'activité du facteur sérique protéique servant de substrat pour R E F, plutôt qu'à la présence de facteurs diminuant l'érythropoïèse en abaissant l'incorporation de fer radioactif.

En effet, le plasma obtenu à partir d'animaux auxquels on a injecté de fortes doses d'œstrogènes ne contient plus d'œstrogènes résiduels biologiquement actifs et n'est plus capable de diminuer l'érythropoïèse d'une souris normale [1].

Il y aurait donc une diminution de ces protéines lors de l'utilisation d'œstrogènes, et cela ne permettrait plus la formation d'E S F à partir de R E F.

Cette diminution du facteur sérique serait liée à une baisse du métabolisme des protéines dans le foie; il y a en effet diminution de l'activité des systèmes S G O T et S G P T [13].

Pour les androgènes, selon Joahne et Jepson, on pourrait donc prévoir une augmentation de l'activité de ces deux systèmes qui conduirait à une augmentation de ce facteur sérique protéique, lui-même conduisant à une élévation du taux d'E S F.

— Potentialisation de l'érythropoïétine.

J. P. Naets et wittek pensent que cette potentialisation pourrait impliquer une modification des cellules souches correspondant, soit à une augmentation de la sensibilité de ces cellules à l'érythropoïétine (la même quantité d'érythropoïétine différencierait un plus grand nombre de cellules souches en érythroblastes), soit à une augmentation du nombre absolu de ces cellules souches [13, 24].

Stohlmann décrit des patients avec des anémies aplastiques chez lesquels, en dépit de taux élevés en érythropoïétine, la production de globules rouges était minimale. Chez ces patients, la testostérone augmentait la production de globules rouges et l'hémoglobine, qui atteignaient des valeurs normales [33].

L'efficacité des androgènes semble être indépendante du taux d'hémoglobine et de la production d'érythropoïétine. Une explication de ce fait clinique, qui ne peut être expliqué par une simple potentialisation entre E S F et les androgènes, pourrait être l'existence d'un inhibiteur de l'érythropoïèse dont le niveau pourrait être diminué par les androgènes [16].

Une interférence de la testostérone avec un tel inhibiteur présent en excès pourrait diminuer son activité et ainsi augmenter l'efficacité de l'érythropoïétine.

Conclusion

Quel que soit le mode d'action des androgènes sur l'érythropoïèse, la présence de l'érythropoïétine pourrait être la condition nécessaire pour l'expression de cet effet.

Les androgènes ne semblent pas augmenter directement la quantité de E S F ou R E F.

Il est plus probable qu'ils agissent indirectement, soit par potentialisation, soit par effet sur la protéine sérique qui sert de support à R E F.

Le temps de latence toujours observé après le traitement par les androgènes a suggéré un mécanisme d'action des androgènes bien différent de celui du processus hypoxique.

CHAPITRE TROISIÈME

Expérimentation personnelle

A. CHOIX DES TECHNIQUES ET PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

I. Choix des techniques

[3]

Aujourd'hui, pour apprécier l'érythropoïèse, on utilise assez souvent l'incorporation de Fe^{59} dans les érythroblastes; cette technique récente, à la fois précise et rapide, donne un reflet fidèle de l'érythropoïèse, mais nécessite un appareillage assez complexe.

Notre but est d'évaluer la stimulation de l'érythropoïèse chez le chien, sous l'action d'un anabolisant, afin de voir si l'administration d'un tel produit présente un intérêt réel en thérapeutique, en dehors des cas où un déficit en androgènes est à l'origine de l'anémie; pour cela, il faut que cette stimulation soit nette, et nous avons mis en œuvre des techniques utilisables de manière courante pour la détecter.

Il fallait disposer de tests montrant la stimulation de la moelle, l'apparition de formes jeunes de globules rouges dans le sang et montrer que les hématies formées étaient normales.

Nous avons donc réalisé divers examens sanguins et des myélogrammes.

1) *Examens sanguins*

Le sang est prélevé sur Wintrobe et rapidement examiné.

a) *Numération globulaire.*

On emploie une pipette de Potain. La dilution au 1/200 est effectuée dans le liquide de Marcano.

Le compte du nombre des hématies se fait sur une cellule de Thoma.

b) *Hématocrite.*

Il est réalisé suivant la technique de Wintrobe.

c) *Morphologie des globules rouges.*

Elle nous renseigne sur l'apparition de formes jeunes dans le sang. Cette morphologie est étudiée sur un frottis coloré par le May Grumwald (5 mn) et Giemsa (dilué au 1/5, 12 mn).

On note l'anisocytose, c'est-à-dire le degré d'irrégularité dans la forme des globules rouges, et la polychromatophilie, qui signe les variations de l'intensité de fixation de ces colorants.

d) *Taux d'hémoglobine pour 100 ml de sang.*

Le dosage de l'hémoglobine dans le sang total a été réalisé par la technique à la cyaméthémoglobine; les lectures étaient effectuées sur photomètre « Lumetron ».

Connaissant la numération globulaire, ce dosage nous permettra de calculer la valeur globulaire (teneur globulaire moyenne en hémoglobine du globule rouge). Chez le chien, cette valeur est en moyenne de 22 $\mu\mu$g.

e) *Numération de réticulocytes.*

Cette numération est importante chez le chien puisqu'elle permet de déterminer l'importance effective de la régénération globulaire.

Nous utilisons la technique qui consiste à compter indirectement sur un frottis de sang le nombre de réticulocytes par rapport à 1 000 hématies.

Nous réalisons ce frottis après coloration des réticulocytes par une solution de bleu de Crésyl brillant. Dans un tube à hémolyse, au bain-marie à 37 °C, on place V gouttes de cette solution, puis V gouttes de sang rendu incoagulable (Wintrobe).

L'étalement du frottis se fait quinze minutes plus tard. A partir de la numération globulaire, il nous est facile de faire une conversion pour connaître le nombre de réticulocytes par millimètre cube de sang.

f) *Protides totaux.*

A chaque examen, nous prenons soin de calculer les protides totaux pour savoir si, dans les jours qui suivent la saignée, il n'y a pas hémoconcentration.

2) *Examen de la moelle osseuse*

a) *Technique de la ponction osseuse.*

On ponctionne la moelle osseuse au niveau d'un os facilement accessible (sternum, crête iliaque).

La ponction sternale est la plus répandue et c'est celle que nous avons pratiquée dans notre expérimentation.

On sait que, en dehors des localisations pathologiques, le myélogramme est identique quel que soit l'endroit

de l'os où le prélèvement a été fait [3]. On utilise une aiguille courte et solide qui est obturée exactement par un mandrin bisoté (trocart de Mallarmé). Il faut se servir d'une seringue très bien ajustée pour aspirer la moelle. Il est indispensable que ces instruments soient stérilisés à la chaleur sèche, car la moindre trace d'humidité risque de lyser les cellules.

L'anesthésie préalable des téguments n'est pas nécessaire car elle ne supprime pas le seul moment vraiment pénible de la ponction qui se produit au moment de l'aspiration.

On enfonce l'aiguille perpendiculairement à la peau au niveau du corps d'une sternèbre (5^{e} ou 6^{e}) ; on sent d'abord la résistance de l'os puis, en forçant davantage, on éprouve une sensation de résistance vaincue. A ce moment, on retire le mandrin, on adapte la seringue et on aspire. Une goutte de moelle apparaît dans la seringue en même temps que le sujet accuse une légère douleur.

On confectionne alors des frottis sans attendre car la coagulation est rapide. La coloration se fait au May Grumwald Giemsa.

b) *Myélogramme.*

C'est l'étude des éléments médullaires. Elle se fait au microscope à immersion. On compte deux cents cellules tout en notant les pourcentages des différents éléments indiqués ci-dessous :

— proérythroblastes,
— érythroblastes basophiles (première et deuxième générations),
— érythroblastes polychromatophiles,
— érythroblastes acidophiles,
— lymphocytes,
— autres cellules blanches.

3) *Rapport granulo-érythroblastique*

C'est le rapport de tous les éléments de la série granulocytaire aux éléments nucléés de la série « rouge ».

Dans la moelle normale, ce rapport varie de 2 à 3, c'est-à-dire qu'il y a deux à trois fois plus d'éléments de la série blanche que de la série rouge. Ce chiffre n'a aucune signification en soi; il doit donc, pour prendre sa valeur, être confronté au contexte hématologique.

Lorsque la moelle est pleinement stimulée, ce nombre arrive à descendre jusqu'à la valeur 1.

II. Protocole expérimental

1) *Recrutement des chiens et adaptation à leur nouveau mode de vie*

Nous avons réalisé notre travail sur des chiens en bonne santé, âgés de un à trois ans, de taille moyenne, mâles ou femelles (quatre mâles et deux femelles).

Durant une quinzaine de jours, les chiens s'adaptent à leur nouvelle vie dans notre chenil.

Leur état de santé est observé chaque jour et la nature de la nourriture reçue est identique pour chacun d'entre eux (bouillon de viande et pain avec quelques morceaux de viande).

2) *Examens préliminaires*

Ils sont pratiqués aux huitième et dixième jours et permettent de noter la constance des valeurs hématologiques.

On pratique donc, après rasage des poils au niveau des membres et du sternum, une désinfection locale suivie d'une ponction sternale et d'une prise de sang.

Les valeurs hématologiques doivent être constantes durant ces deux derniers jours. Dans le cas contraire, le chien est éliminé du cadre de l'expérimentation.

3) *Premier temps expérimental*

Étude de la régénération sanguine après saignée et sans administration d'androgènes.

Au douzième jour de son arrivée au chenil et après avoir prélevé 5 ml de sang sur « Wintrobe » et pratiqué une ponction sternale, le chien est pesé afin d'avoir une idée de son volume sanguin total.

On estime qu'il y a en moyenne chez cette espèce 80 ml de sang par kilogramme de poids vif.

Sur chacun de nos animaux, nous avons décidé arbitrairement de prélever, à chaque saignée, un cinquième du volume sanguin total.

Il nous est ainsi facile de connaître, en fonction du poids, la quantité de sang à prélever.

Soit, pour un chien de 20 kg :

$$\frac{80 \times 20}{5} = 320 \text{ ml}$$

Cette saignée est pratiquée à la veine saphène externe ou à la veine radiale antérieure grâce au dispositif de prélèvement sanguin utilisé chez l'homme.

Notons ici que tous les chiens ne nous ont pas paru choqués par l'importance de cette saignée.

Suivant cette saignée, nous prélevons six fois, à quarante-huit heures d'intervalle, 3 ml de sang et une goutte de moelle osseuse sternale pour la réalisation des divers examens sanguins déjà cités.

Ainsi, ce premier temps nous permettra de suivre la régénération sanguine qui suit la stimulation érythropoïétique liée à la saignée.

4) *Deuxième temps*

Étude de la régénération sanguine suivant une saignée et l'administration d'androgènes.

Après les examens précédents, chaque chien n'est plus suivi durant une dizaine de jours. Ce laps de temps permettra à l'animal de poursuivre et terminer sa régénération sanguine et nous éviterons ainsi toute interférence entre la première et la seconde saignée.

Puis, dans les mêmes conditions, nous effectuerons une nouvelle saignée et l'administration d'androgènes. L'androgène utilisé est la méthélone à la dose de 1 mg par kilogramme de poids vif.

Ce traitement est répété toutes les quarante-huit heures durant douze jours.

Cette seconde partie de notre expérimentation nous permettra de noter l'action de stimulation érythropoïétique due aux androgènes et à la saignée.

La comparaison des deux types de résultats nous conduira à noter la stimulation spécifique liée aux androgènes.

Il faut noter, avant d'exposer nos résultats expérimentaux, que la rate constitue, chez le chien, un réservoir de globules rouges appréciable; la splénoconcentration atténue les effets d'une hémorragie.

B. Résultats expérimentaux

Nous avons d'abord évalué la stimulation érythropoïétique après saignée sur deux chiens (chiens n^{os} I et II), sans par la suite administrer d'androgènes. Il nous a semblé intéressant de mentionner les résultats obtenus.

Le protocole expérimental complet a été ensuite effectué sur quatre chiens (chiens n^{os} III, IV, V et VI).

1) *Chien n° I*

(Épagneul mâle, 4 ans, 22 kg, saignée 320 ml.)

Réticulose :

Elle s'amorce dès le troisième jour qui suit la saignée et atteint son maximum au sixième jour. Ce maximum est atteint lorsque le rapport granulo-érythropoïétique est le plus bas.

La réticulose diminue à partir du huitième jour.

Rapport granulo-érythroblastique :

Il est intéressant de noter que ce rapport est le plus bas le jour où le taux de réticulocyte est maximum. La moelle retourne à des valeurs normales vers le dixième jour.

Hématocrite :

Il est le plus bas entre le deuxième et le quatrième jour. Notons qu'il n'atteint pas sa valeur initiale au dixième jour qui suit la saignée.

Numération globulaire :

Elle retrouve ici ses valeurs initiales dès le sixième jour.

Anisocytose et Polychromatophilie :

Elles apparaissent dès le sixième jour.

Hb/100 ml :

On note une très légère augmentation dès le quatrième jour; au dixième jour, le taux initial est dépassé.

CHIEN N° I

EPAGNEUL MALE, 4 ANS, 22 KG, SAIGNEE 320 ML

Erythropoïèse après saignée

	Avant saignée	Après saignée					
Jours d'expérience	0	2	4	6	8	10	12
	—	—	—	—	—	—	—
EXAMENS SANGUINS :							
GR/mm³	6 M	5,2 M	5,1 M	5,5 M	5,8 M	6,1 M	
Hématocrite	50 %	41 %	42 %	45 %	46 %	47 %	
Morphologie :							
Anisocytose				+	+	++	
Polychromatophilie				+	++	++	
Hémoglobine :							
en g/100 ml	13	12,6	12,6	13	13,1	13,1	
valeur globulaire (en µµg)	21,6	24	24,7	23,6	22,5	21,4	
Réticulocyte :							
Nombre/mm³	24 000	10 400	45 900	66 000	63 800	30 500	
MYELOGRAMME (en %) :							
Proérythroblaste	1	2	0	1	1	0	
Erythroblaste basophile I	2	5	2	1	0	0	
— II	6 (8)	7 (12)	9 (11)	6 (7)	3 (3)	3 (3)	
Erythroblaste polychromatophile	10	15	18	20	16	9	
Erythroblaste acidophile	7	7	10	21	13	12	
Lymphocyte	3	2	5	3	4	7	
Autres cellules blanches	71	62	55	48	63	69	
Rapport granulo-érythroblastique	2,7	1,7	1,4	0,9	1,9	2,8	

2) *Chien n° II*

(Race commune, mâle, 1 an, 18 kg, saignée 280 ml.)

Réticulocytose :

Elle apparaît nettement dès le quatrième jour après la saignée; ici, son maximum est atteint entre le huitième et le dixième jour. Elle chute à partir du dixième jour et retrouve ses valeurs initiales au douzième jour.

Rapport granulo-érythroblastique :

Son minimum (stimulation maximum) est atteint plus rapidement que dans le cas précédent (troisième jour). Il nous faut attendre le sixième jour pour voir ses valeurs remonter.

Hématocrite :

Après une légère augmentation au deuxième jour qui suit la saignée, il diminue très légèrement et, au douzième jour, il n'atteint pas encore sa valeur initiale. La valeur des protides totaux est restée constante (5,5 g/100 ml) durant toute l'expérimentation.

Numération globulaire :

Elle chute ici beaucoup plus brutalement et l'augmentation plus ou moins régulière de ses valeurs ne parvient pas à atteindre son pourcentage initial.

Anisocytose :

Elle apparaît ici beaucoup plus tôt (quatrième jour) ; au douzième jour, elle n'a pas cessé d'exister.

Hb/100 ml :

Elle augmente dès le quatrième jour comme dans le cas précédent; mais cette augmentation passagère est suivie d'une chute de ses valeurs.

Au douzième jour, le taux initial n'est pas encore dépassé, contrairement au premier cas.

CHIEN N° II

CHIEN MALE, 1 AN, 18 KG, SAIGNEE 280 ML

Erythropoïèse après saignée

	Avant saignée	Après saignée					
Jours d'expérience	0	2	4	6	8	10	12
	—	—	—	—	—	—	—
EXAMENS SANGUINS :							
GR/mm³	6,1 M	5,1 M	4,8 M	5,2 M	5,2 M	5,2 M	5,6 M
Hématocrite	45 %	46 %	44 %	44 %	44 %	45 %	45 %
Morphologie :							
Anisocytose			+	+	+	+	++
Polychromatophilie			+	+	++	++	++
Hémoglobine :							
en g/100 ml	14,2	12,3	12,5	10	10,4	12,8	14
valeur globulaire (en µµg)	23,4	24,1	26	19,2	20	24,6	25
Réticulocyte :							
Nombre/mm³	6 100	10 200	9 600	26 000	36 800	42 000	16 800
MYELOGRAMME (en %) :							
Proérythroblaste	2	1	1	1	0	1	0
Erythroblaste basophile I	4	2	2	1	0	0	0
— II	6 } 10	8 } 10	4 } 6	4 } 5	3 } 3	4 } 4	1 } 1
Erythroblaste polychromatophile	13	25	22	27	18	15	10
Erythroblaste acidophile	5	12	21	15	13	10	18
Lymphocyte	4	4	5	2	5	6	8
Autres cellules blanches	66	48	45	50	62	64	63
Rapport granulo-érythroblastique	2,2	1	0,9	1	1,8	2,1	2,1

Sur les quatre chiens suivants, nous avons effectué le protocole expérimental complet, à savoir :

— surveillance de l'érythropoïèse après saignée sans administration d'androgènes;

— puis, après un temps de repos, surveillance de l'érythropoïèse après saignée identique, mais avec administration d'androgènes.

3) *Chien n° III*

(Braque mâle, 3 ans, 18 kg, saignée 280 ml.)

Réticulocytose :

— Sans androgènes : elle débute au troisième-quatrième jour et atteint son maximum au sixième jour et décroît rapidement pour atteindre ses valeurs initiales au dixième jour. Il y a donc une similitude d'action avec les cas I et II.

— Avec androgènes : malgré la montée réticulocytaire obtenue dès le deuxième jour et qui nous paraît due à une erreur, on peut dire que la réticulocytose démarre vraiment au quatrième jour; le maximum est atteint au dixième jour.

Au sixième jour, le taux des réticulocytes est déjà trois fois plus élevé que le pourcentage obtenu sans androgènes.

Cette réticulocytose est donc à la fois plus puissante et plus soutenue que celle obtenue par la seule saignée.

Rapport granulo-érythroblastique :

— Sans androgènes : le minimum est atteint dès le deuxième jour et les valeurs initiales sont retrouvées vers le huitième jour.

— Avec androgènes : le minimum est atteint dès le quatrième jour et l'on observe que ses valeurs minimales sont soutenues jusqu'au dixième jour.

En ce sens, on peut dire que le rapport granulo-érythroblastiques est un reflet fidèle de l'érythropoïèse puisqu'au plateau des valeurs minimales de ce rapport correspond exactement la montée réticulocytaire.

La comparaison des deux courbes de ce rapport nous indique également une érythropoïèse plus puissante et plus soutenue dans le temps lors de l'utilisation des androgènes.

Hématocrite :

— Sans androgènes : les valeurs initiales ne sont pas retrouvées au huitième jour qui suit la saignée.

— Avec androgènes : les valeurs de départ sont retrouvées et dépassées dès le sixième jour.

Numération globulaire :

— Sans androgènes : les valeurs de départ sont loin d'être retrouvées au douzième jour de l'expérimentation.

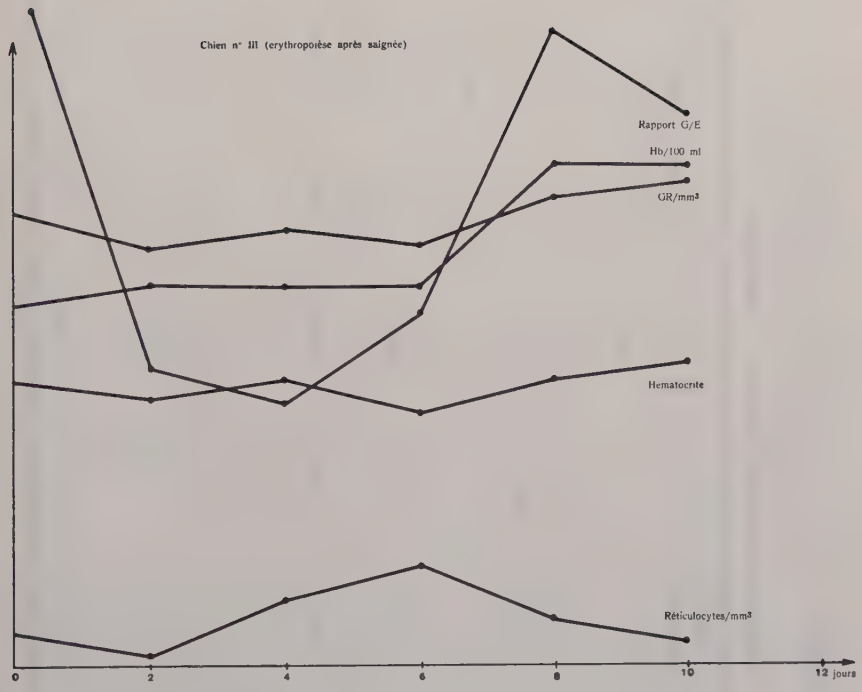
— Avec androgènes : au douzième jour, la numération est supérieure à celle du jour de la saignée.

CHIEN N° III

BRAQUE MALE, 3 ANS, 18 KG, SAIGNEE 280 ML

Erythropoïèse après saignée

	Avant saignée	Après saignée					
Jours d'expérience	0	2	4	6	8	10	12
EXAMENS SANGUINS :							
GR/mm³	6,7 M	6,5 M	6,6 M	6,5 M	6,8 M	6,9 M	
Hématocrite	47 %	46 %	47 %	45 %	47 %	48 %	
Morphologie :							
Anisocytose				+			
Polychromatophilie				+			
Hémoglobine :							
en g/100 ml	12,3	12,8	12,8	12,8	14,5	14,5	
valeur globulaire (en µµg)	18,3	19,6	19,3	19,6	21,3	21	
Réticulocyte :							
Nombre/mm³	20 000	6 500	39 500	58 500	27 200	13 800	
MYELOGRAMME (en %) :							
Proérythroblaste	1	0	0	0	0	0	
Erythroblaste basophile I	2	2	5	2	0	0	
— II	6 8	5 7	7 12	6 8	1 1	1 1	
Erythroblaste polychromatophile	4	20	18	15	14	6	
Erythroblaste acidophile	1	8	7	8	5	15	
Lymphocyte	13	4	5	4	4	4	
Autres cellules blanches	73	60	58	65	76	73	
Rapport granulo-érythroblastique	5,2	1,7	1,5	2,1	3,8	3,3	



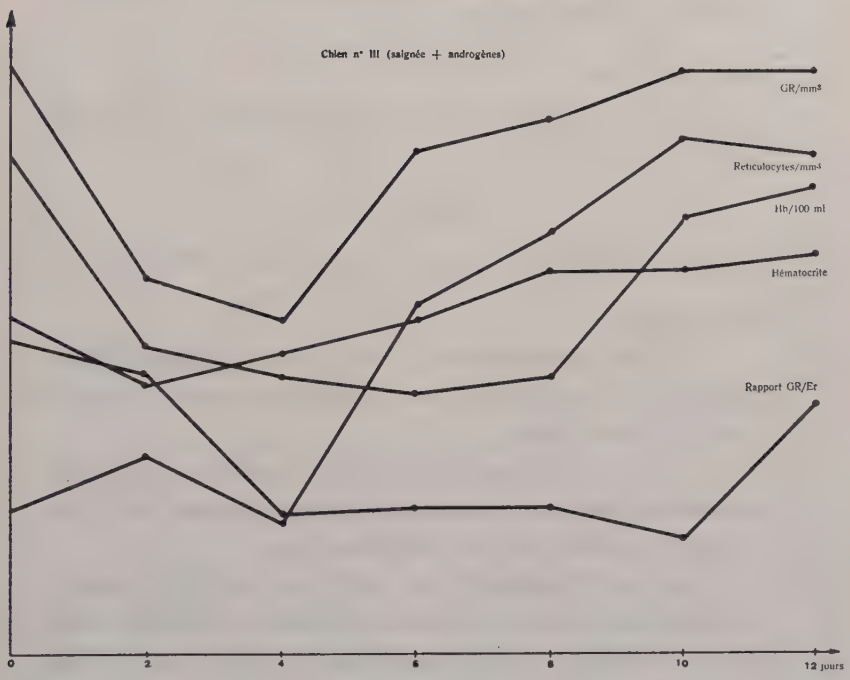
Chien n° III (érythropoïèse après saignée)

CHIEN N° III

BRAQUE MALE, 3 ANS, 18 KG, SAIGNEE 280 ML

Erythropoïèse après saignée + androgènes

	Avant saignée	Après saignée					
Jours d'expérience	0	2	4	6	8	10	12
	—	—	—	—	—	—	—
EXAMENS SANGUINS :							
GR/mm³	7 M	6,2 M	6 M	7 M	7,2 M	7,5 M	7,5 M
Hématocrite	50 %	46 %	48 %	50 %	53 %	53 %	54 %
Morphologie :							
Anisocytose		+	+	++	+++	+++	++
Polychromatophilie		+	+	++	++	+++	++
Hémoglobine :		+					
en g/100 ml	14,4	11,6	11,2	10,9	11,2	13,5	14
valeur globulaire (en µµg)	20,5	18,7	18,6	15,5	15,5	18	18,6
Réticulocyte :							
Nombre/mm³	14 000	119 000	78 000	210 000	252 000	308 000	300 000
MYELOGRAMME (en %) :							
Proérythroblaste	0	0	0	0	1	1	0
Erythroblaste basophile I	1	1	2	1	2	2	1
— II	1 2	8 9	4 6	2 3	3 5	4 6	3 4
Erythroblaste polychromatophile	18	22	24	26	18	20	12
Erythroblaste acidophile	13	5	23	21	27	30	22
Lymphocyte	5	3	4	6	4	5	4
Autres cellules blanches	62	61	43	44	45	40	58
Rapport granulo-érythroblastique	1,8	1,7	0,8	0,8	0,9	0,7	1,5



Chien n° III (saignée + androgènes)

Anisocytose et polychromatophilie :

Elles semblent plus précoces et plus soutenues lors de l'utilisation d'androgènes.

Hb/100 ml :

Les androgènes ne semblent pas ici augmenter le taux d'hémoglobine.

Valeur globulaire :

La valeur globulaire reste assez faible le douzième jour.

4) *Chien n° IV*

(Braque femelle, 3 ans, 15 kg, saignée 240 ml.)

Réticulocytose :

— Sans androgènes : elle débute entre le deuxième et le quatrième jour; son maximum est atteint au huitième jour.

— Avec androgènes : dès le deuxième jour, la réticulocytose est amorcée; son maximum est également atteint dès le huitième jour.

On peut conclure que, dans ce cas, la réticulocytose n'est pas plus prolongée dans le temps avec les androgènes. Il faut cependant observer que cette réticulocytose est beaucoup plus intense avec les androgènes.

Rapport granulo-érythroblastique :

— Sans androgènes : nous observons un minimum au sixième jour.

— Avec androgènes : ce minimum est ici atteint beaucoup plus rapidement (deuxième jour) et persiste quatre jours (plateau de la courbe).

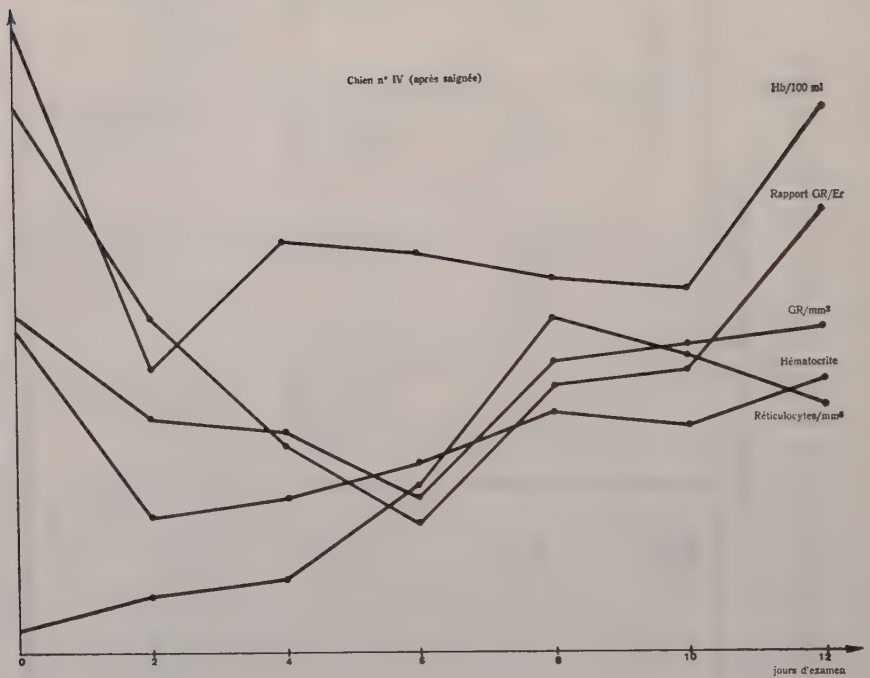
Il est curieux de remarquer que ce rapport augmente puis diminue à partir du dixième jour.

CHIEN N° IV

BRAQUE FEMELLE, 3 ANS, 15 KG, SAIGNEE 240 ML

Erythropoïèse après saignée

	Avant saignée	Après saignée					
Jours d'expérience	0	2	4	6	8	10	12
EXAMENS SANGUINS :							
GR/mm³	6 M	5,4 M	5,3 M	4,9 M	5,7 M	5,8 M	5,9 M
Hématocrite	49 %	38 %	39 %	41 %	44 %	43 %	46 %
Morphologie :							
Anisocytose				++	++	++	
Polychromatophilie				++	++	++	
Hémoglobine :							
en g/100 ml	16,2	11,2	13,1	12,9	12,5	12,3	15
valeur globulaire (en µµg)	27	20,7	24,7	26,3	21,9	21,2	25,4
Réticulocyte :							
Nombre/mm³	12 000	32 400	42 400	98 000	198 000	174 000	143 000
MYELOGRAMME (en %) :							
Proérythroblaste	0	0	0	0	0	0	0
Erythroblaste basophile I	8	3	0	0	0	0	0
— II	0 8	7 10	10 10	4 4	2 2	1 1	2 2
Erythroblaste polychromatophile	8	14	15	23	17	16	7
Erythroblaste acidophile	6	7	18	27	18	20	12
Lymphocyte	6	5	2	6	6	2	13
Autres cellules blanches	72	63	53	40	57	61	56
Rapport granulo-érythroblastique	3,3	2	1,2	0,7	1,5	1,6	2,7



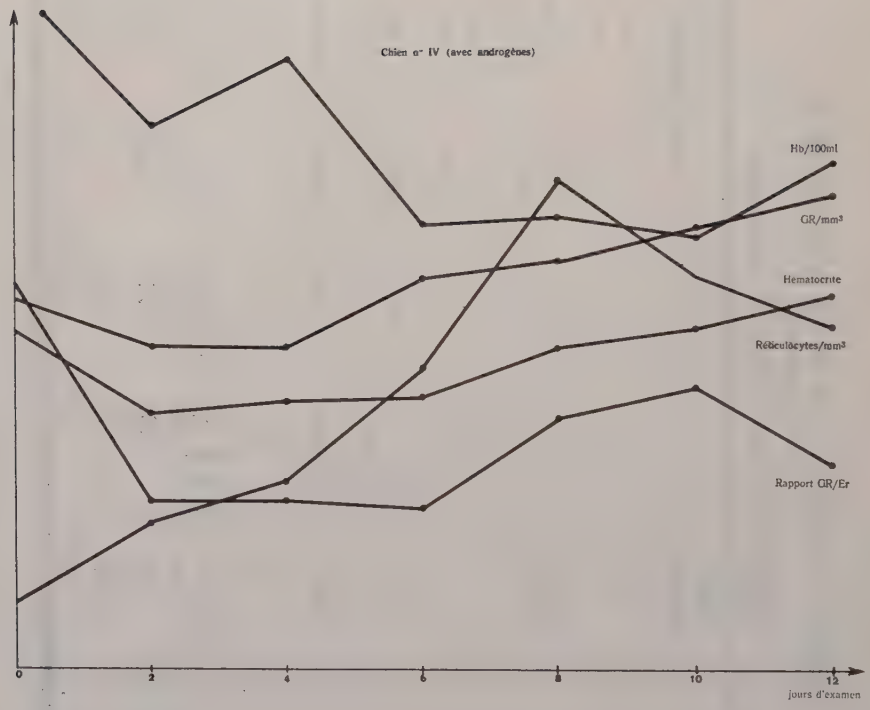
Chien n° IV (après saignée)

CHIEN N° IV

BRAQUE FEMELLE, 3 ANS, 15 KG, SAIGNEE 240 ML

Erythropoïèse après saignée + androgènes

	Avant saignée	Après saignée					
Jours d'expérience	0	2	4	6	8	10	12
	—	—	—	—	—	—	—
EXAMENS SANGUINS :							
GR/mm³	6,2 M	5,9 M	5,9 M	6,3 M	6,4 M	6,6 M	6,8 M
Hématocrite	50 %	45 %	46 %	46 %	49 %	50 %	52 %
Morphologie :							
Anisocytose			+	+	++	++	+
Polychromatophilie			+	++	+	++	++
Hémoglobine :							
en g/100 ml	17,3	15	16	13,5	13,7	13,3	14,4
valeur globulaire (en µµg)	27	25,4	27,1	21,4	21,4	20,1	21,1
Réticulocyte :							
Nombre/mm³	13 000	88 000	112 000	176 000	288 000	230 000	200 000
MYELOGRAMME (en %) :							
Proérythroblaste	0	3	1	0	0	0	0
Erythroblaste basophile I	2	1	3	2	0	0	1
— II	2 — 4	7 — 8	13 — 16	8 — 10	3 — 3	4 — 4	11 — 12
Erythroblaste polychromatophile	15	20	15	25	22	15	21
Erythroblaste acidophile	10	16	21	15	15	20	11
Lymphocyte	6	4	2	3	1	1	4
Autres cellules blanches	65	51	52	47	59	60	52
Rapport granulo-érythroblastique	2,2	1,1	0,9	0,9	1,5	1,5	1,2



Chien n° IV (avec androgènes)

Hématocrite :

Si, sans androgènes, il ne retrouve pas sa valeur initiale au douzième jour, avec les androgènes, cette valeur est bien dépassée à la fin de notre expérimentation.

Anisocytose et polychromatophilie :

On peut noter qu'elles apparaissent deux jours plus tôt lors de l'administration d'androgènes.

Hb/100 ml :

L'Hb/100 ml est plus faible qu'au départ, avec ou sans androgènes.

Valeur globulaire :

La valeur globulaire initiale n'est pas atteinte le douzième jour.

5) *Chien n° V*

(Berger allemand mâle, 2 ans, 20 kg, saignée 300 ml.)

Réticulocytose :

Dès le quatrième jour, nous constatons que celle-ci se trouve nettement augmentée, elle est intense et, qui plus est, prolongée jusqu'au dixième jour de notre expérimentation avec les androgènes.

Dans les deux cas, le maximum est atteint au dixième jour.

Rapport granulo-érythroblastique :

Avec les androgènes, son minimum est atteint moins rapidement, mais est soutenu jusqu'au dernier jour de notre expérimentation.

Hématocrite :

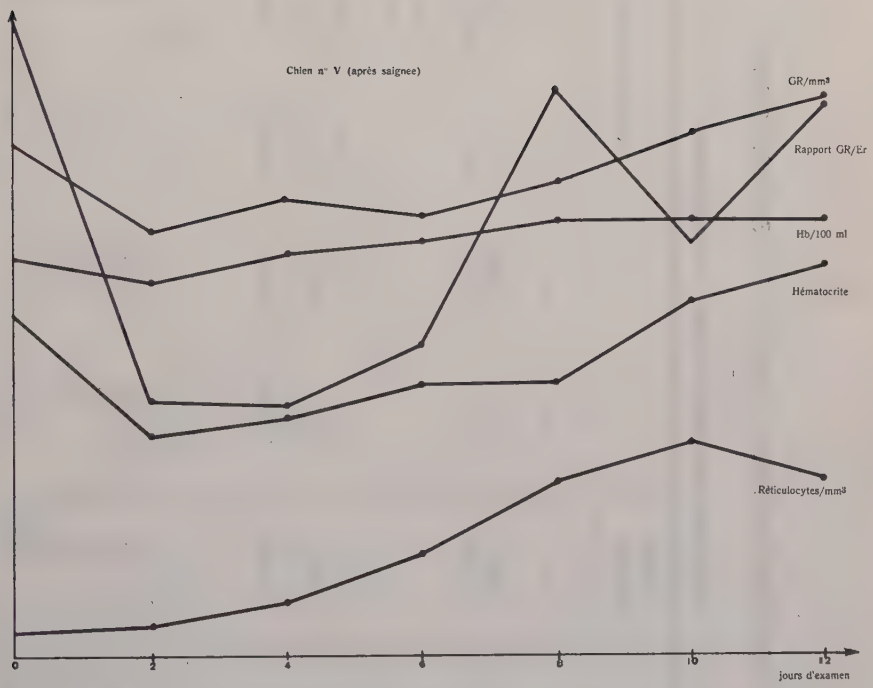
Dans les deux cas, les valeurs initiales sont dépassées dès le dixième jour, et nous ne pouvons rien conclure.

CHIEN N° V

CHIEN BERGER MALE, 2 ANS, 20 KG, SAIGNEE 300 ML

Erythropoïèse après saignée

	Avant saignée	Après saignée					
Jours d'expérience	0	2	4	6	8	10	12
EXAMENS SANGUINS :							
GR/mm³	7 M	6,5 M	6,7 M	6,6 M	6,8 M	7,1 M	7,3 M
Hématocrite	50 %	43 %	44 %	46 %	46 %	51 %	53 %
Morphologie :							
Anisocytose				+	+	+	+
Polychromatophilie				+	+	+	+
Hémoglobine :							
en g/100 ml	12,8	12,5	12,9	13,1	13,4	13,4	13,4
valeur globulaire (en µµg)	18,2	19,2	19,2	19,8	19,7	18,8	18,3
Réticulocyte :							
Nombre/mm³	14 000	19 500	32 300	60 300	102 000	124 000	102 000
MYELOGRAMME (en %) :							
Proérythroblaste	1	0	2	2	0	1	0
Erythroblaste basophile I	3	6	5	1	0	0	0
— II	5 } 8	6 } 12	9 } 14	6 } 7	3 } 3	4 } 4	3 } 3
Erythroblaste polychromatophile	10	14	12	13	8	5	8
Erythroblaste acidophile	1	5	9	11	10	17	10
Lymphocyte	5	6	8	7	9	7	10
Autres cellules blanches	75	63	55	60	70	66	69
Rapport granulo-érythroblastique	3,7	2,7	1,5	1,8	3,3	2,4	3,3



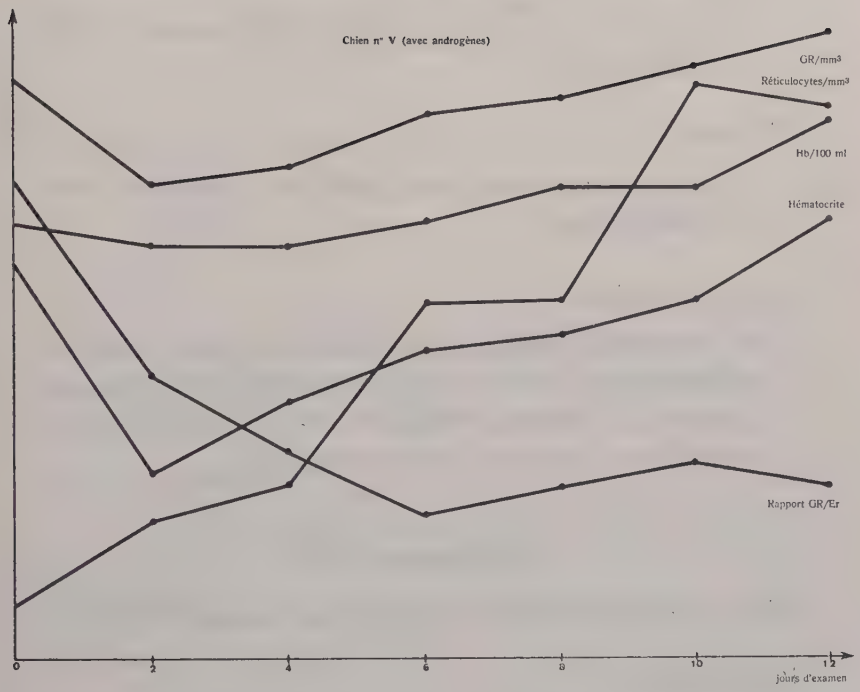
Chien n° V (après saignée)

CHIEN N° V

CHIEN BERGER MALE, 2 ANS, 20 KG, SAIGNEE 300 ML

Erythropoïèse après saignée + androgènes

	Avant saignée	Après saignée					
Jours d'expérience	0	2	4	6	8	10	12
	—	—	—	—	—	—	—
EXAMENS SANGUINS :							
GR/mm³	7,4 M	6,8 M	6,9 M	7,2 M	7,3 M	7,5 M	7,7 M
Hématocrite	53 %	41 %	45 %	48 %	49 %	51 %	56 %
Morphologie :							
Anisocytose				+	++	+++	++
Polychromatophilie				+	++	+++	++
Hémoglobine :							
en g/100 ml	13,4	13,1	13,1	13,4	13,9	13,9	14,8
valeur globulaire (en µµg)	18,1	19,2	18,9	18,6	19	18,5	19,2
Réticulocyte :							
Nombre/mm³	20 000	81 700	103 000	209 000	210 000	338 000	324 000
MYELOGRAMME (en %) :							
Proérythroblaste	0	0	0	1	0	1	0
Erythroblaste basophile I	2	3	1	1	0	0	4
— II	3 = 5	7 = 10	3 = 4	7 = 8	4 = 4	3 = 3	4 = 8
Erythroblaste polychromatophile	13	18	10	8	6	10	13
Erythroblaste acidophile	7	8	26	34	36	29	25
Lymphocyte	5	4	12	6	8	8	4
Autres cellules blanches	70	60	48	43	46	49	50
Rapport granulo-érythroblastique	2,8	1,6	1,2	0,8	1	1,1	1,1



Chien n° V (avec androgènes)

Numération globulaire :

Dans les deux cas, nous observons une augmentation du nombre des globules rouges par rapport aux nombres initiaux.

Anisocytose et polychromatophilie :

Avec les androgènes, elles sont plus marquées dès le huitième jour.

Hb/100 ml :

On constate une très légère augmentation avec les androgènes.

Valeur globulaire :

Les valeurs globulaires augmentent pour atteindre un maximum vers le sixième jour. Elles reprennent ensuite les valeurs initiales vers le dixième jour, aussi bien avec que sans androgènes.

6) *Chien n° VI*

(Chien courant femelle, 2 ans, 10 kg, saignée 160 ml.)

Réticulocytose :

Sans androgènes, elle est peu importante.

Avec la méthonolone, nous observons une stimulation beaucoup plus importante.

Rapport granulo-érythroblastique :

La courbe obtenue ici sans androgène diffère des précédentes; celle suivant l'administration d'androgènes confirme ce que nous avons déjà observé sur les autres chiens.

Hématocrite :

Il n'y a rien de significatif ici puisque, dans les deux cas, nous obtenons, à la fin de l'expérimentation, des valeurs supérieures à celles du départ.

Numération globulaire :

Ici, l'action des androgènes est très marquée et, dès le cinquième jour, les valeurs initiales sont retrouvées.

Anisocytose et polychromatophilie :

Aucune différence significative ne peut être observée.

Hb/100 ml :

Dans les deux cas, nous observons une augmentation; celle qui suit l'action des androgènes est beaucoup plus importante.

Valeur globulaire :

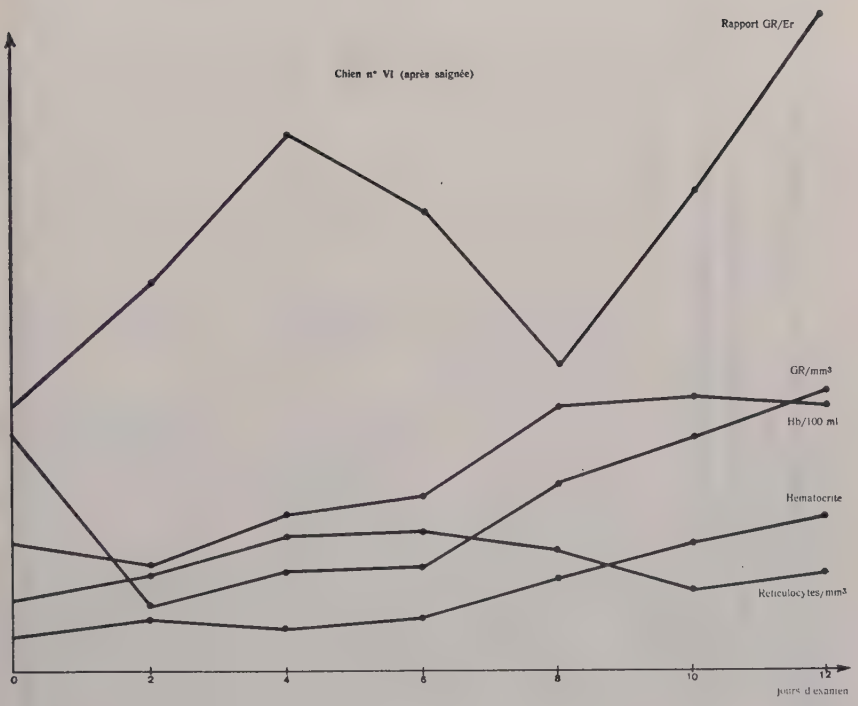
Elle est maximale au douzième jour suivant l'administration d'androgènes, mais subit peu de variations.

CHIEN N° VI

CHIEN COURANT FEMELLE, 2 ANS, 10 KG, SAIGNEE 160 ML

Erythropoïèse après saignée

	Avant saignée	Après saignée					
Jours d'expérience	0	2	4	6	8	10	12
EXAMENS SANGUINS :							
GR/mm³	5 M	4 M	4,2 M	4,2 M	4,7 M	5 M	5,3 M
Hématocrite	30 %	29 %	28 %	29 %	32 %	34 %	36 %
Morphologie :							
Anisocytose			++	+	+	+	+
Polychromatophilie				+	+	+	+
Hémoglobine :							
en g/100 ml	8	7,7	8,3	8,6	9,9	10,2	10
valeur globulaire (en µµg)	16	19,2	19,5	20,4	21	20,4	18,9
Réticulocyte :							
Nombre/mm³	5 000	20 000	42 500	46 750	33 200	10 000	21 200
MYELOGRAMME (en %) :							
Proérythroblaste	2	4	0	0	0	1	0
Erythroblaste basophile I	2	4	0	1	2	0	0
— II	3 (5)	7 (11)	3 (3)	2 (3)	1 (3)	5 (5)	2 (2)
Erythroblaste polychromatophile	21	13	11	14	14	10	8
Erythroblaste acidophile	16	5	12	12	20	13	10
Lymphocyte	6	6	4	5	3	2	8
Autres cellules blanches	50	61	70	66	50	70	73
Rapport granulo-érythroblastique	1,1	1,8	2,7	2,3	1,3	2,4	3,6



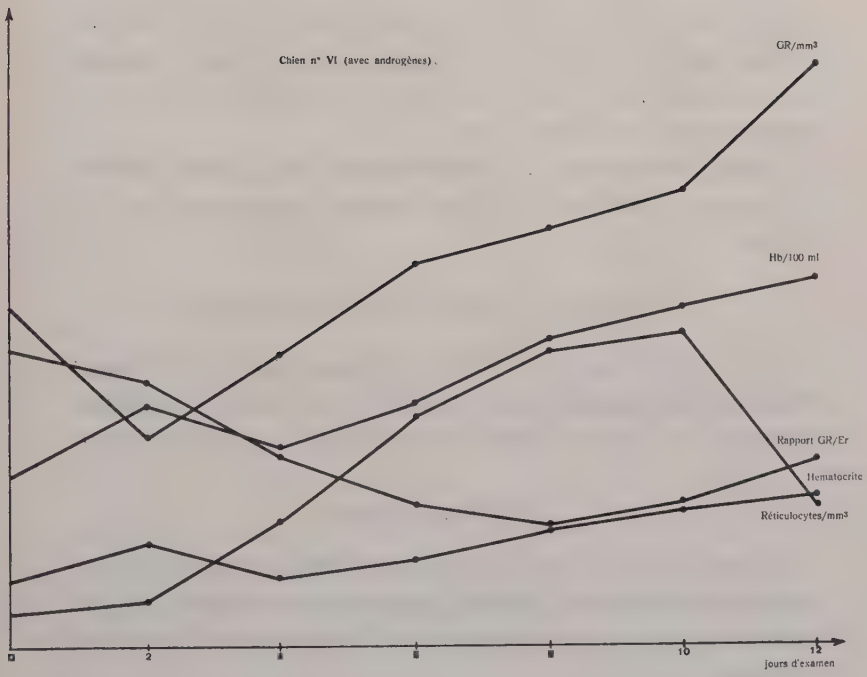
Chien n° VI (après saignée)

CHIEN N° VI

CHIEN COURANT FEMELLE, 2 ANS, 10 KG, SAIGNEE 160 ML

Erythropoïèse après saignée + androgènes

	Avant saignée	Après saignée					
Jours d'expérience	0	2	4	6	8	10	12
EXAMENS SANGUINS :							
GR/mm³	6 M	5,2 M	5,7 M	6,3 M	6,5 M	6,7 M	7,5 M
Hématocrite	34 %	36 %	34 %	35 %	37 %	38 %	39 %
Morphologie :							
Anisocytose		+	++	++	++	+	+
Polychromatophilie		0	++	++	++	+	+
Hémoglobine :							
en g/100 ml	9,5	10,6	9,9	10,7	11,6	12,1	12,5
valeur globulaire (en µµg)	15,8	20,4	17,4	17	17,8	18	16,6
Réticulocyte :							
Nombre/mm³	18 000	26 200	75 000	138 000	175 000	188 000	84 000
MYELOGRAMME (en %) :							
Proérythroblaste	0	2	0	2	0	0	0
Erythroblaste basophile I	1	3	1	2	0	0	1
— II	3 = 4	12 = 15	7 = 8	5 = 7	3 = 3	2 = 2	4 = 5
Erythroblaste polychromatophile	24	21	35	32	34	28	16
Erythroblaste acidophile	9	2	5	14	24	25	25
Lymphocyte	3	2	2	6	3	5	6
Autres cellules blanches	60	58	50	39	36	40	48
Rapport granulo-érythroblastique	1,6	1,4	1	0,7	0,5	0,7	0,8



Chien n° VI (avec androgènes)

C. Interprétation des résultats

Les résultats obtenus sont identiques chez les quatre chiens, qu'il s'agisse de mâles ou de femelles.

1) *La réticulocytose*

On ne peut pas dire qu'avec les androgènes elle débute plus tôt qu'avec la simple saignée. Elle s'amorce dès le troisième jour et atteint son maximum entre le huitième et le dixième jour.

Sans androgènes, la réticulocytose est moins intense et, surtout, elle est toujours moins soutenue dans le temps.

2) *Rapport granulo-érythroblastique*

Son minimum est atteint un peu plus tardivement avec les androgènes, mais les valeurs minimales se maintiennent en plateau jusqu'au neuvième ou dixième jour.

3) *Hématocrite*

Dans les deux cas, il se trouve augmenté, mais l'action des androgènes semble apporter un surcroît de globules rouges comparativement à la stimulation naturelle (saignée).

4) *Numération globulaire*

On peut conclure que les androgènes stimulent l'érythropoïèse; la numération globulaire retrouve et dépasse sa valeur initiale dès le dixième jour.

5) *Anisocytose et polychromatophilie*

Elles semblent plus marquées avec les androgènes.

6) *Hb/100 ml et valeur globulaire*

Notre expérimentation ne permet pas une interprétation valable; chez les chiens III et IV, la valeur globulaire est plus faible après administration d'androgènes; chez les chiens V et VI, il n'y a pas de variations significatives. Il en est de même pour les quantités d'hémoglobine par 100 ml de sang, qui ne sont pas toujours supérieures à leur valeur de départ malgré l'augmentation du nombre des globules rouges.

Conclusion

Nous avons pensé qu'il serait intéressant de faire la synthèse des connaissances actuelles concernant l'action des androgènes sur l'érythropoïèse.

Pour cela, nous avons d'abord rappelé certains aspects morphologiques et dynamiques, puis le rôle de l'érythropoïétine.

Notre étude bibliographique nous a permis de classer les diverses hypothèses qui tentent d'expliquer le mécanisme d'action des androgènes.

Nous savons maintenant que ces hormones agissent indépendamment de leur pouvoir virilisant et que la présence d'érythropoïétine est une condition indispensable à leur action.

Un effet direct des androgènes dans la différenciation des cellules semble être exclu.

De la même façon, l'idée d'une augmentation de la quantité d'érythropoïétine suivant le traitement aux androgènes semble maintenant de plus en plus abandonnée.

Aujourd'hui, il est plus satisfaisant de penser que ces anabolisants provoquent une potentialisation de l'érythropoïétine.

Le mécanisme exact de l'action des androgènes dans l'érythropoïèse sera élucidé le jour où l'on pourra isoler l'érythropoïétine à l'état pur et ainsi doser exactement son taux dans le sang avant et après l'administration d'androgènes.

Dans le but d'évaluer la stimulation de l'érythropoïèse sous l'action d'un anabolisant, nous avons effectué une expérimentation portant sur quatre chiens adultes (deux mâles et deux femelles).

Pour chacun d'entre eux, l'évaluation de l'érythropoïèse a été faite après une saignée, puis, à la suite d'un temps de repos, après une saignée équivalente et l'administration de méthénolone injectée toutes les quarante-huit heures, à la posologie de 1 mg/kg pendant dix jours; l'importance de la posologie est à souligner puisque, comme nous l'avons vu, des doses trop faibles ou trop importantes peuvent être sans action sur l'érythropoïèse.

Sur ces animaux, nous avons constaté que la stimulation médullaire, la réticulocytose et l'augmentation du nombre de globules rouges par millimètre cube étaient plus intenses et plus soutenues lorsque la saignée était suivie de l'administration d'anabolisant.

L'étude de l'hémoglobine et des valeurs globulaires ne nous a pas permis de juger avec précision de la capacité fonctionnelle des hématies formées.

Vu :

Le Directeur de l'Ecole vétérinaire,
rapporteur,
R. FLORIO.

Vu :

Le Président de la Thèse,
GADRAT.

Vu et permis d'imprimer :

Toulouse, le 10 janvier 1972.
Le Président de l'Université Paul-Sabatier,
L. LARENG.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALBERT S., GORDON A. S., ESMAIL D. et coll. — The Renal Erythropoietic Factor (R.E.F.). VII. Relation to Sex Steroid Hormone effects on Erythropoiesis. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1968, 129, 871-874.
2. ALEXANIAN R., VAUGHIN W. K. et coll. — Erythropoietin Excretion in Man following Androgens. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1967, 70, 777-785.
3. BESSIS M. — Traité de Cytologie sanguine. — Masson et Cie, édit., Paris, 1954.
4. DUARTE L., SANCHEZ L. et coll. — The Erythropoietic effect of Anabolic Steroids. — *Exp. Biol. Med.*, 1967, 125, 1030-1032.
5. DUARTE L. et coll. — The Erythropoietic effects of Anabolic Steroids. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1967, 125, 1030-1032.
6. FERRARI L., RIZZOLI V., CARNEVOLI C. et coll. — Studies on Erythropoiesis. Note IV : Effect of Testosterone on Erythropoiesis in the Rat deprived of the kidney. — *G. Clin. Med.*, 1968, 49, 895-904.
7. FRIED W., GURNEY C. W. — The Erythropoietic stimulating effect of Androgens. — *Ann. Acad. Sci.*, 1968, 149, 356-367.
8. GANBARD G. C., PERRONI G. L. et coll. — Dosaggio biologico della Erithropoietina plasmatica praticato attraverso lo studio della Incorporazione percentuale del Fe^{59} nelle emazie di ratto digiunante. — *Patol. Clin. Ital.*, 1968, 24, n° 3.
9. GLADER B. E. et coll. — Observation on the Effect of Testosterone and Hydrocortisone on Erythropoiesis. — *Ann. New York Acad. Sci.*, 1968, 149, 383-388.
10. GORDON A. S., MIRAND E. A. et coll. — Androgens actions on Erythropoiesis. — *Ann. New York Acad. Sci.*, 1968, 149, 318-335.
11. HRINDA M. E., GOLDWASSER E. — Studies on the Control of Hemoglobin Formation in marrow cells. — *Ann. New York Acad. Sci.*, 1968, 149, 412-415.

12. JEANJEAN Ph. — Les insuffisances médullaires idiopathiques du sujet jeune, leur traitement par les androgènes. — Thèse méd., Paris, 1965, n° 186505.

13. JEPSON J. F. et coll. — The Effect of Testosterol adrenal steroid and Prolactin on Erythropoiesis. — *Acta Haemat.*, 1967, 38, 292-299.

14. KATZ R., COOPER G. W. — Studies on the Sites of Erythropoietion Production. — *Ann. New York Acad. Sci.*, 1968, 149, 120-127.

15. KATZ R. — Studies on the Sites of Erythropoietin Production. *Dissert. Alstr. Biol.*, 1967, 27, 37.

16. KUBANEK B. — Erythropoietin : The Haematologist's Hormone. *Horm. Met. Res.*, 1969, 22, 151-156.

17. MEDLINSKY J. T., NAPIER C. D. — The use of an Androgen to further investigate the Erythropoietic Effects of Androgens. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1969, 74, 85-92.

18. MEINCHE H. A., CRAFTS R. C. — Furthers Observations on the Mecanism by which Androgens and growth hormones influence Erythropoiesis. — *Ann. New York Acad. Sci.*, 1968, 149, 130-131.

19. MIRAND E. A. et coll. — Effect of Testosterone on renal, hemodynamics and erythropoietin release in dogs. — *Invest. Urol.*, 1966, 4, 203-207.

20. MOORES R. R., WRIGHT C. S. et coll. — Stimulation of erythropoietin by androgens in the Human. — *Scand. J. Haemat.*, 1968, 5, 415-420.

21. MOORES R. R., WRIGHT C. S. et coll. — Stimulation of erythropoietin by androgens in the Human. — *Scand. J. Haemat.*, 1968, 5, 420-425.

22. MURPHY G. P., MIRAND E. A. et coll. — Renal and Extrarenal erythropoietin in man. — *J. Med.*, 69, 2007-2011.

23. NAETS J. P., WITTEK M. — Mecanism of action of androgens on erythropoiesis. — *Ann. New York Acad. Sci.*, 1968, 149, 366-376.

24. NAETS J. P., WITTEK M. — Mecanism of action of androgens on erythropoiesis. — *Amer. J. Physiol.*, 1966, 210, 315-320.

25. OLESEN H., FOCH J. — Apparent Molecular weight of Erythropoietin determined by gel filtration. — *Scand. J. Haemat.*, 1968, 5, n° 3.

26. PAUL J., HUNTER J. A. — DNA Synthesis in response to erythropoietin. — *Nature*, 1968, 219, 1362-1363.

27. PESCLE C., SASSO G. F. et coll. — Neuroendocrine relation of Erythropoiesis. III : Mecanism of the Erythropoietic effect of Testosterone. — *Progr. Méd.*, 1968, 24, 952-958.

28. PESCLE C., TALLARIDA G. et coll. — Il mecanisme dell' azione eritropoietice degli ormoni androgeni. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.,* 1968, 44, 348-352.

29. PESCLE C. et coll. — Modificazioni dell' effetto eritropoietico indotto dell' eritropoietina esogena et endogena durante il trattamento con testosterone o tetra e triodotironina. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.,* 1969, 45, 873-877.

30. SHIRAKURA T., AZUMA M. et coll. — Effect of androgen antagonists on Erythropoietic action of Testosterone. — *Acta Haemat. Basel,* 1968, 40, 299-304.

31. SHIRAKURA T. et coll. — Studies on erythropoietic action of Testosterone. — *Acta Haemat.,* 1967, 38, 49-56.

32. STACHER A., BOHNEL J. — Action d'un anabolisant nouveau sur le système hémopoïétique. — *Med. Klin.,* 1962, 57, 976.

33. SULTAN C., ROCHANT H. et coll. — L'érythropoïèse normale et sa régulation. — *Ann. Biol. Clin.,* 25, 1967.

34. WENIG J. — Endocrine influences on erythropoiesis with emphosis on the action of Androgens. — *Dissert. Abstr.,* 1967, 27, 4108.

35. ZITTOUN R., BERNADOU A. et coll. — La Méthénolone dans le traitement des insuffisances médullaires. — *Presse Méd.,* 1968, 76, 445-448.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction .. 9

CHAPITRE PREMIER

ASPECTS MORPHOLOGIQUE ET DYNAMIQUE DE L'ERYTHROPOïESE - ERYTHROPOïETINE

1) Aspect morphologique de l'érythropoïèse .. 12

2) Aspect dynamique de l'érythropoïèse .. 14

3) Les cellules souches .. 16

4) L'érythropoïétine .. 17

- **a)** Mécanisme de la différenciation d'une cellule souche en proérythroblaste.
- **b)** Propriétés physico-chimiques.
- **c)** Lieu de formation et de production.
- **d)** Régulation de la production d'érythropoïétine.
- **e)** Détermination de l'érythropoïétine.
- **f)** Métabolisme de l'érythropoïétine.

CHAPITRE II

ROLE DES ANDROGENES SUR L'ERYTHROPOïESE

1) Rappel sur les androgènes .. 23

- **a)** Découverte des androgènes.
- **b)** Androgènes et anabolisants.

2) Androgènes et érythropoïèse .. 26

- **a)** Introduction.
- **b)** Conditions d'action.
- **c)** Mécanisme d'action des androgènes sur l'érythropoïèse.

CHAPITRE III

EXPERIMENTATION PERSONNELLE

A. Choix des techniques et protocole expérimental

I. CHOIX DES TECHNIQUES 33

1) Examens sanguins 34
- **a)** Numération globulaire.
- **b)** Hématocrite.
- **c)** Morphologie des globules rouges.
- **d)** Taux d'hémoglobine.
- **e)** Numération des réticulocytes.
- **f)** Protides totaux.

2) Examen de la moelle osseuse 35
- **a)** Technique de la ponction osseuse.
- **b)** Myélogramme.

3) Rapport granulo-érythroblastique 37

II. PROTOCOLE EXPERIMENTAL 37

1) Recrutement des chiens et adaptation à leur nouveau mode de vie 37

2) Examens préliminaires 37

3) Premier temps expérimental : Etude de la régénération sanguine suivant une saignée 38

4) Deuxième temps : Etude de la régénération sanguine suivant une saignée et l'administration d'androgènes 39

B. Résultats expérimentaux

1) Chien n° I 40
2) Chien n° II 42
3) Chien n° III 44
4) Chien n° IV 50
5) Chien n° V 55
6) Chien n° VI 60

C. Interprétation des résultats

1) Réticulocytose 66
2) Rapport granulo-érythroblastique.
3) Hématocrite.
4) Numération globulaire.
5) Anisocytose et polychromatophilie.
6) Hb/100 ml, valeur globulaire 67

Conclusion 69

Bibliographie 71

Imp. Toulousaine, Vve LION, 16, rue Lakanal, Toulouse.
Dépôt légal 1er trim. 72 Aa. 631